


# Опыт создания оригинальных лекарственных средств от идеи до нормативной документации



## **Пожарицкая Ольга Николаевна**

Заместитель генерального директора по стандартизации  
и новым технологиям ЗАО «Санкт-Петербургский  
институт фармации»

Тел/факс +7 812 603 2432

E-mail: [pozharitskaja.on@doclinika.ru](mailto:pozharitskaja.on@doclinika.ru)

[www.doclinika.ru](http://www.doclinika.ru)

# «Русский» путь создания новых препаратов

---

- Основные продукты российских фармкомпаний на рынке – дженерики
- Главные их преимущества – доступность технологий и относительная дешевизна производства
- Компании в России прошли фазу дженериков и биоаналогов и накопили опыт, знания и деньги
- Начинается развитие рынка оригинальных препаратов

Создание высокоэффективных и безопасных лекарственных средств требует комплексного решения проблем на этапах поиска оптимальных методов синтеза фармакологически активных веществ, исследования их физико-химических и химических свойств, изучения биологической активности и токсичности, разработки технологии и организации производства готовой продукции.

# Этапы создания и производства лекарственного средства

---

- I. Теоретический этап
- II. Научно-исследовательский этап
- III. Производственный этап
- IV. Управление рисками

# Шаг 1: Предварительные исследования

---

- **Определение наличия «неудовлетворенной потребности»**
  - Неудовлетворенная потребность имеется тогда, когда для лечения определенного заболевания либо
    - не имеется подходящих препаратов либо
    - препарат имеется, но он вызывает у некоторых пациентов непереносимые побочные эффекты, которые делают прием ими препарата невозможным.

# Шаг 2: Выбор мишени

---

- ❑ Заболевания возникают тогда, когда естественные процессы организма изменяются или не функционируют надлежащим образом.
- ❑ При разработке препарата важно подробно (на молекулярном уровне) разобраться, что происходит не так. Тогда патологический процесс может быть выбран в качестве «мишени» и откорректирован.
- ❑ «Мишенью» может быть молекула, вырабатываемая в чрезмерном объеме, что может препятствовать нормальному функционированию организма, или молекула, которая не вырабатывается в достаточном объеме или имеет патологическую структуру. Например, диабет вызван либо недостатком вырабатываемого инсулина, либо отсутствием реакции на него клеток, а при раке вырабатывается слишком много химического мессенджера, который дает клеткам сигнал к патологическому росту.

## Шаг 3: Поиск рабочих вариантов

---

- На этом этапе происходит поиск молекулы, которая способна взаимодействовать с мишенью. Молекула может быть получена из естественного источника, например, растения, или может быть создана в химической лаборатории. Речь идет о «малых молекулах». Сотни тысяч молекул тестируются в поиске рабочих вариантов — молекул, способных взаимодействовать с мишенью. Поиск рабочих вариантов называется скринингом. Современные роботизированные технологии позволяют выполнять «высокопроизводительный» скрининг. Это означает, что можно быстро протестировать миллионы молекул. После того, как рабочие варианты найдены, можно переходить к следующему этапу.

# Шаг 4: Оптимизация рабочих вариантов

---

- Оптимизация рабочих вариантов происходит путем внесения в молекулы модификаций, позволяющих усилить их эффект. В ходе скрининга выявляются рабочие варианты — молекулы, которые взаимодействуют с мишенью. Однако, зачастую такие молекулы имеют слабое действие и сами по себе не подходят для дальнейших разработок. Химики изменяют молекулу, выбранную в качестве «рабочего варианта», присоединяя к ней элементы или удаляя их. Это создает спектр молекул, которые слегка различаются. Также может быть изменена молекула, лежащая в основе существующего препарата, с целью усиления или изменения действия препарата. Структура таких молекул может создаваться с использованием компьютерных технологий.
- Эти измененные молекулы затем тестируются, чтобы определить, какая структура дает наилучший эффект и наибольшую переносимость (безопасность). Такие исследования помогают ученым понять фармакологию молекулы, т.е. как молекула действует в организме. Молекулы, которые проявляют наибольшую эффективность и являются наиболее безопасными, можно использовать в дальнейшем в качестве «исследуемого препарата». На этот момент научная и техническая информация об исследуемом веществе, например, его молекулярная структура и действие, регистрируется или патентуется с целью защиты авторских прав на интеллектуальную собственность.



# Обязательно!

---

- на каждом этапе процесса разработки проводится анализ результатов серии экспериментов и принимается решение о необходимости продолжать исследование. Если принимается положительное решение, то делаются дальнейшие вложения для финансирования новой серии экспериментов. Если результаты, полученные в ходе экспериментов, демонстрируют, что в дальнейших исследованиях нет смысла, то принимается решение против их продолжения, и проект прекращается.

# Шаг 5: Доклинические исследования на безопасность

---

- **Безопасно ли вещество для тестирования в рамках клинических испытаний?** На данном этапе процесса разработки лекарственного препарата проводятся исследования безопасности на животных, которые регулируются правилами и нормами надлежащей лабораторной практики (GLP). Исследуемое вещество не может быть испытано с участием людей (т.е. в рамках клинических исследований), пока не будут получены данные о его безопасности в рамках исследований безопасности на животных. Процесс разработки препаратов строго контролируется. Законодательство диктует набор правил и норм, которые регулируют, что и как необходимо выполнять.

## Шаг 6: Доказательство механизма действия — клинические исследования 1 фазы

---

- До начала клинического исследования необходимо подать заявку на проведение клинического исследования. К ней прилагаются следующие важные документы:
  - досье исследуемого лекарственного препарата, включая данные о всасывании, распределении, метаболизме и выведении препарата (ADME) и исследованиях эффекта (на мишень), данные о токсикологической безопасности, а также информацию о производстве препарата;
  - протокол исследования, в котором описываются подробности проведения исследования и оценки результатов;
  - брошюра исследователя, в которой обобщается информация, позволяющая проводящим исследование врачам (исследователям) понять, как исследуемый лекарственный препарат действует в организме (фармакология). Это позволяет исследователям объяснить суть исследования волонтерам и пациентам и получить их информированное согласие (см. ниже).
  - В рамках этого процесса также запрашивается мнение комитета по этике.

# 1 фаза КИ

---

- В клинических исследованиях 1 фазы принимают участие 20–100 волонтеров. Обычно эти исследования проводятся в специальных отделениях, где набирают волонтеров и проводят исследования. Врачи, проводящие эти исследования, называются «исследователями», и они обладают нужной квалификацией для проведения клинических испытаний с целью определения результатов исследования.
- Первое клиническое исследование обычно проводится с участием здоровых мужчин-волонтеров. Подробности клинического исследования должны быть описаны в протоколе исследования, при этом они включают:
  - сведения об истории заболевания (неудовлетворенной потребности);
  - доклинические данные;
  - подробное описание клинического исследования (что конкретно и когда будет происходить); **а также**
  - способы использования и анализа данных.

# Безопасность — задача номер один

---

- информированное согласие (обеспечивает понимание участниками того, что будет происходить, и их согласие на участие в исследовании); **и**
- оценка и заключение комитета по этике.

# Кофермент Q

---

- **Кофермент Q** — это группа коферментов — бензохинонов, содержащих хиноидную группу (отсюда обозначение Q) и содержащих несколько изопрениловых групп (например, 10 в случае кофермента Q10).
- Кофермент Q необходим для нормальной жизнедеятельности живых организмов и, прежде всего, для функционирования тканей с высоким уровнем энергетического обмена. Наибольшая концентрация кофермента Q — в тканях сердечной мышцы. Естественный уровень кофермента Q в плазме крови человека составляет около 0.8-1.2 мкг/мл.

# Источники коэнзима Q10

---

- ❑ К основным пищевым источникам коэнзима Q10 можно отнести мясо, дичь и рыбу. Среди прочих источников можно упомянуть соевое масло и орехи.
- ❑ Содержание коэнзима Q10 во фруктах, овощах, яйцах и молочных продуктах не значительно.
- ❑ Было подсчитано, что пищевой, экзогенный коэнзим Q10 составляет около 25% его концентрации в крови.
- ❑ Коэнзим Q10 частично разрушается при жарке овощей и яиц. При варке его содержание в продукте практически не изменяется.

# История

---

- ❑ В 1955 году был впервые употреблен термин кофермент Q для обозначения вещества, содержащегося практически во всех живых клетках.
- ❑ В 1957 году Q10 был выделен из митохондрий бычьего сердца Доктором Фредериком Крейном (Dr. Frederick Crane), Висконсин.
- ❑ В 1958 году профессором Карлом Фолкерсом (Prof. Karl Folkers) была установлена его химическая структура.
- ❑ В 1965 году Проф. Ямасура (Prof. Yamasura, Япония) опубликовал научные выкладки, демонстрирующие взаимосвязь недостаточности кофермента Q10 и сердечно-сосудистых заболеваний.
- ❑ В 1975 году Кофермент Q10 впервые синтезирован японскими учеными
- ❑ В 1978 году за описание процессов хемиосмотического фосфорилирования Питер Митчелл (Peter Mitchell) удостоен Нобелевской премии в области химии.
- ❑ В 1997 году основан Международный центр по изучению убихинона (International Coenzyme Q10 Association)



# Что такое Кофермент Q10

---

- Существует два мнения по вопросу классификации этого вещества.
  - КоQ10 является витамином или витаминоподобным веществом

## **ИЛИ**

- хотя КоQ10 и присутствует в продуктах питания, это соединение не является витамином, потому что организм способен вырабатывать его из поступающих в наш организм питательных веществ.

# Содержание в организме

---

- ❑ В молодые годы его уровень высок, в 35 лет достигает максимума, а затем начинается снижение. После 40 лет содержание коэнзима в сердце уменьшается на 20-30%.
- ❑ У людей старше 60 лет его уровень составляет всего 50 процентов по сравнению с молодыми.
- ❑ Обнаружено, что при гипертонии, болезнях десен, диабете, почечной недостаточности, раке показатели Q10 снижаются. Это же происходит при крайнем ожирении, старческой деменции, болезнях Альцгеймера и Паркинсона.

# Функции коэнзима Q10

---

- ❑ Участие в качестве переносчика электронов в дыхательной цепи митохондрий, плазматической мембране лизосомах
- ❑ Антиоксидантная функция
- ❑ Участие в активации митохондриальных разобщающих белков
- ❑ Регуляция проницаемости митохондриальных пор
- ❑ Модуляция количества  $\beta 2$ -интегринов на поверхности моноцитов крови
- ❑ Улучшение эндотелиальной дисфункции (за счет увеличения оксида азота)

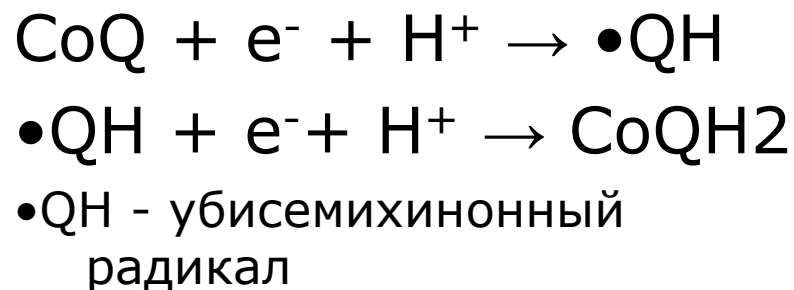
# Применение убихинона в клинической практике в качестве дополнительной терапии:

---

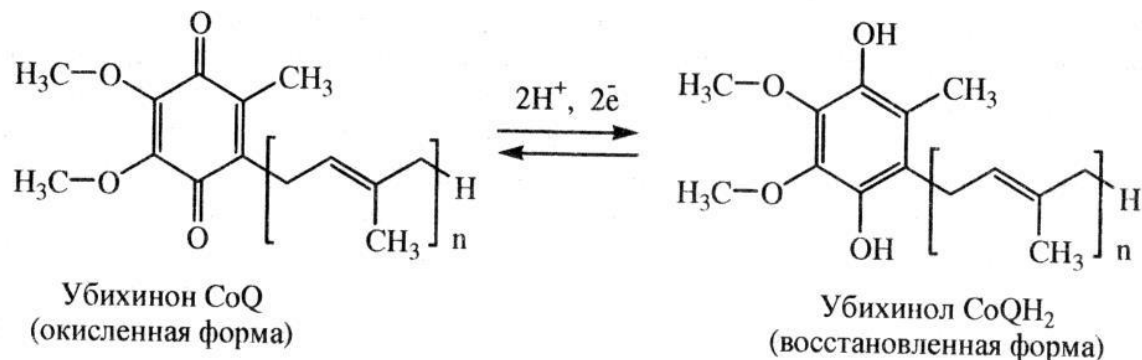
- сердечно-сосудистой системы:
  - кардиомиопатии,
  - артериальной гипертонии
  - хронической стенокардии
  - желудочковой аритмии,
- при раке
- пародонтозе
- мышечной дистрофии

# Убихинон *vs* Убихинол

- Форма существования в организме



- Обратимое превращение



**N.B.**

В восстановленной форме выступает в качестве антиоксиданта, предотвращающего повреждение ДНК, липидов, белков и других молекул.

# Синонимы названий коэнзима Q10

---

## ▣ **Убихинон (Ubiquinone)**

= Убидекаренон  
(Ubidecarenone) =  
Myoquinon = Myoquinone =  
Bio-Qinone = Normal Q10  
= Окисленный Q10  
(Oxidized Q10) = The  
original Q10 = Q = QX =  
CoQ = CoQ10 = 2,3-  
диметокси-5-метил-6-  
декапренил-1,4-  
бензохинон(2,3-  
dimethoxy-5-methyl-6-  
decaprenyl-1,4-  
benzoquinon)  
(Кристаллический  
порошок от желтого до  
оранжевого цвета)

▣ **Убихинол (Ubiquinol)** =  
= Ubiquinol = BioActive Q10  
= Восстановленный Q10  
(Reduced Q10) = QH =  
QH2 = CoQH =  
Дигидрохинон  
(Dihydroquinone) = 2,3-  
диметокси-5-метил-6-  
полипренил-1,4-  
бензохинол (2,3-  
dimethoxy-5-methyl-6-  
poly prenyl-1,4-  
benzoquinol) (Порошок от  
белого до кремового  
цвета)

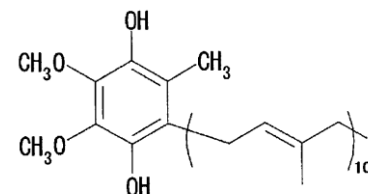
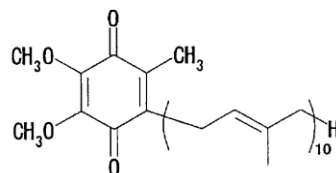
# Убихинон *vs* Убихинол

Название

Убихинон

Убихинол

Структурная формула



Молекулярная масса

863,34

865,37

CAS номер

303-98-0

992-78-9

Включен в основные фармакопеи мира

BP 2011, JP XV, Ph. Eur. 7, USP 34, зарегистрирован в РФ

- Известен с 2006 г

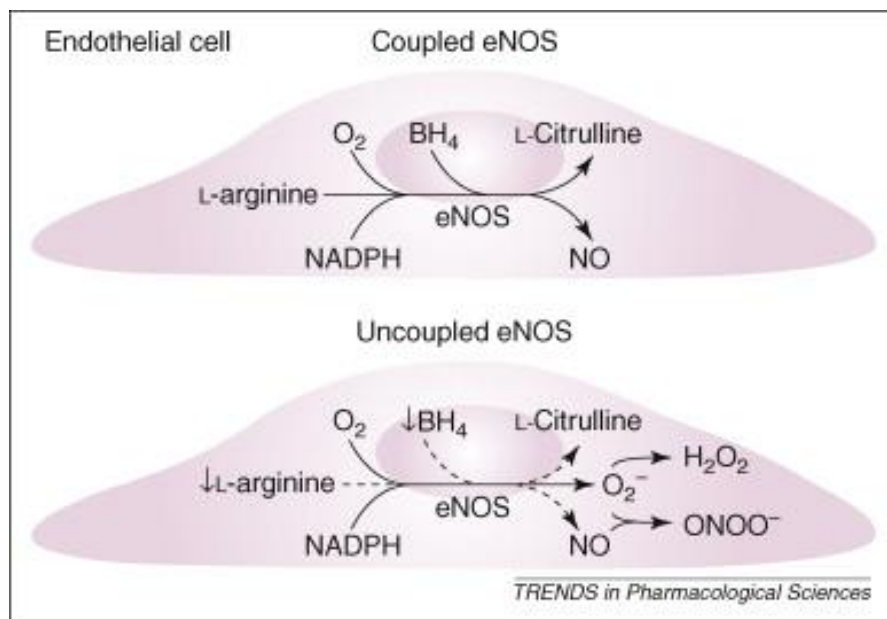
# Преимущества Убихинола перед Убихиноном

---

- ❑ Убихинол выступает в качестве антиоксиданта как в митохондриях, так и в липидных мембранах либо путем непосредственного связывания свободных радикалов или в сочетании с токоферолом
- ❑ Убихинол является наиболее распространенной формой кофермента Q10 в естественных условиях и составляет более 80% от суммарного количества кофермента Q10 находящегося в плазме, кишечнике и печени человека.
- ❑ Применение восстановленной формы коэнзима Q10 более эффективно, чем использование его окисленной формы. Восстановленная форма коэнзима Q10 обладает в 8 раз большей тканевой биодоступностью, чем окисленная
- ❑ Убихинол (восстановленный коэнзим Q10) превосходит убихинон по биодоступности и скорости обнаружения в крови после орального применения.
- ❑ Применение меньших доз восстановленной формы Q10 может существенно снизить расходование субстанции с сохранением эквивалентного биологического эффекта.



# Механизм действия:



Установлено также, что убихинол эффективно перехватывает пероксинитрит (эффективнее, чем GSH). Этот факт весьма важен, так как ONOO<sup>-</sup> является чрезвычайно сильным окислителем и модифицирующим (нитрующим) агентом в живых системах

- Оксид азота (NO) образуется из L-аргинина и молекулярного кислорода (O<sub>2</sub>) эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) в плотно «связанном» процессе с участием тетрагидробиоптерина (BH<sub>4</sub>) и NADPH. Окислительный стресс и эндотелиальная дисфункция приводят к "расстыковки" NO производства и формирования пероксинитрита (ONOO<sup>-</sup>).
- Эндотелиальная дисфункция была признана в качестве важной аномалии при хронической сердечной недостаточности. Эндотелиальной дисфункции может зависеть или от пониженного синтеза оксида азота, или повышенной инактивации оксида азота, или обоих факторов вместе.
- Коэнзим Q10 может увеличить производство NO и уменьшить его инактивацию. Таким образом, это может быть важным механизмом его действия для лечения заболеваний сердца.

# Способы получения восстановленного коэнзима Q10

---

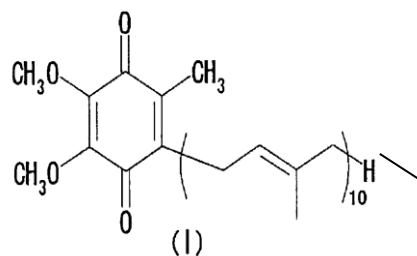
- Синтез,
- Биотехнологический способ  
ферментация,
- Экстракция из природных источников
- прочее

# Химическая схема производства Убихинола

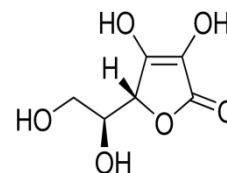
Pat. US  
20110123505,  
20120201802 /  
Kaneka Corp.,  
2011, 2012  
(восстановление  
в кипящем  
спирте 30 ч).

Нами предложен  
метод  
каталитического  
восстановления  
при 60 °С 15-30  
мин (Pat. RU  
2535928, 2013).

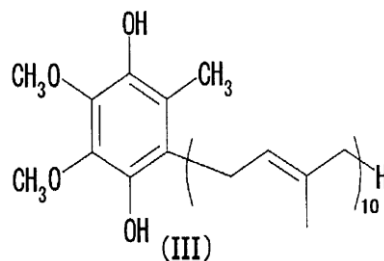
Убидекаренон (I)  
М.м. 863,34



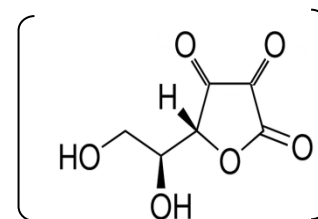
Аскорбиновая кислота (II)  
М.м. 176,12



60 °С, 30 мин, катализатор

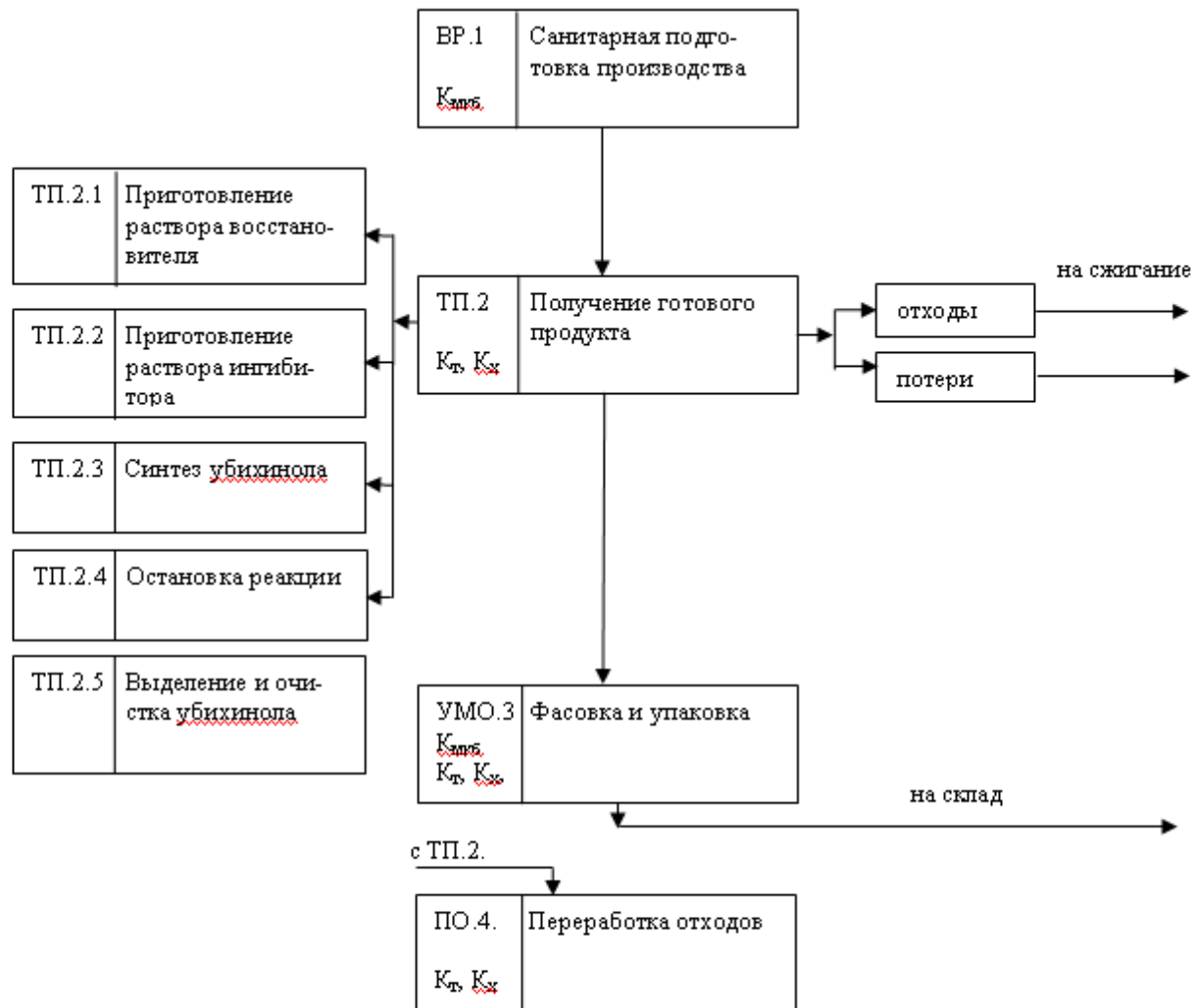


Убихинол (III)  
М.м. 865,37



Дегидроаскорбиновая кислота (IV)  
М.м. 174,11

# Технологическая схема производства субстанции убихинола



# Заключение по проделанной работе

- ❑ Разработана лабораторная технология получения субстанции убихинола
- ❑ Выход очищенной субстанции 85%
- ❑ Нарботаны образцы субстанции для тестирования физико-химических свойств, для изучения стабильности, определения сроков годности и условий хранения, и для проведения экспериментальных исследований безопасности и биологической активности



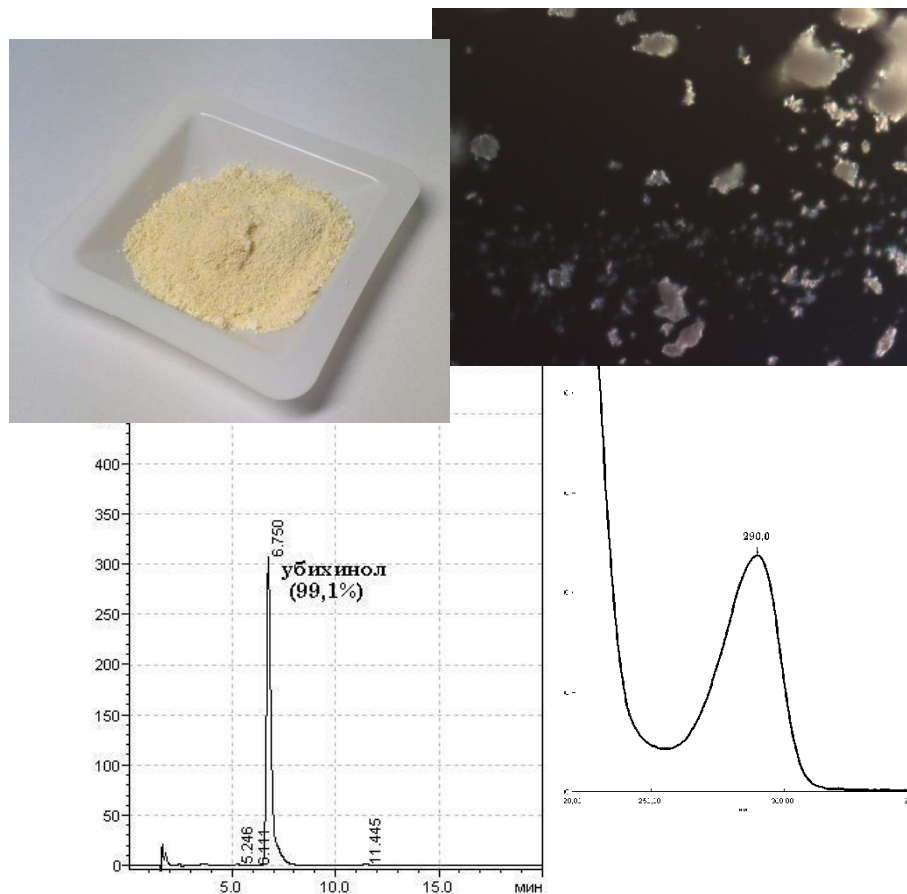
# Стандартизация субстанции

## □ Описание.

- Кристаллический порошок от белого до кремового цвета.

## □ Подлинность

- Ультрафиолетовый спектр раствора препарата в диапазоне длин волн от 220 до 350 нм имеет максимум поглощения при  $290 \pm 2$
- Метод ВЭЖХ



# Спецификация (проект ФСП)

<b>ПОКАЗАТЕЛИ</b>	<b>МЕТОДЫ</b>	<b>НОРМЫ</b>
Описание	Органолептически	Кристаллический порошок от белого до кремового цвета, без запаха
Растворимость	ГФ XII	Практически нерастворим в воде, мало растворим в этаноле, умеренно растворим в гексане
Подлинность	УФ-спектр ВЭЖХ	Максимум при $290 \pm 2$ Наличие пика с заданным относительным временем удерживания
Температура плавления	ГФ XII	48-50 °С
Посторонние примеси Убидекаренона Другой единичной Суммы других единичных	ВЭЖХ	Не более 5 %  Не более 0,5 % Не более 1 %
Показатели чистоты Сульфатная зола Тяжелые металлы	ГФ XII	Не более 0,2% Выдерживает испытание

# Спецификация (продолжение)

<b>ПОКАЗАТЕЛИ</b>	<b>МЕТОДЫ</b>	<b>НОРМЫ</b>
Вода	ГФ XI	Не более 0,3%
Остаточные органические растворители	ГФ XII	Этанол – не более 0,5%
Пирогенность	ГФ XII	Препарат должен быть апирогенен
Количественное определение	УФ	Не менее 95%
Микробиологическая чистота	ГФ XII	Категория 1.2 Б
Упаковка	В соответствии с ФСП	
Маркировка	В соответствии с ФСП	
Хранение	В прохладном защищенном от света месте.	



# Разработка лекарственной формы для парентерального введения

---

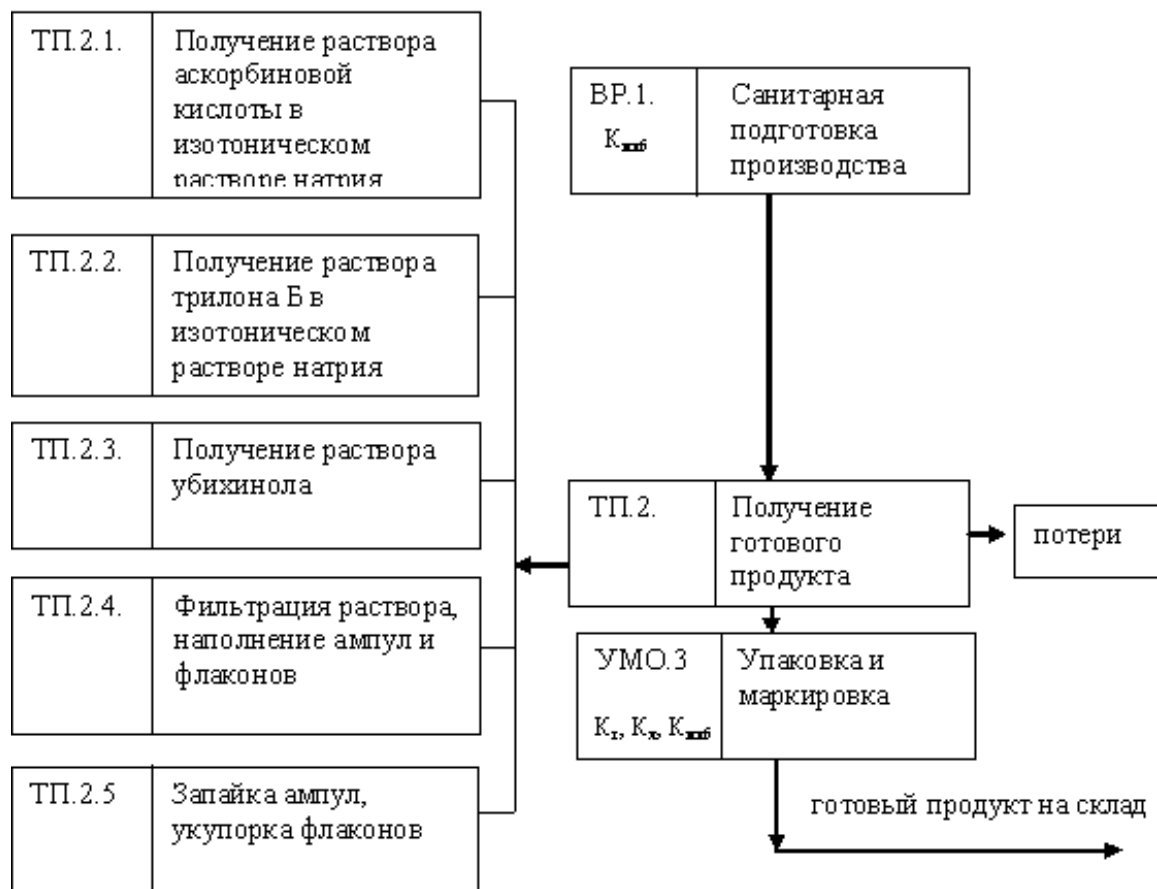
- Требования к дозированной форме:
  - Водный раствор
  - Концентрация убихинола 10 мг/мл
  - Применение для парентерального введения
- Сложности при разработке
  - Высокая липофильность субстанции
  - Практически нерастворимая в воде субстанция
  - Подверженность окислению под действием света, кислорода

# Разработка лекарственной формы для парентерального введения

---

- Повышение растворимости субстанции:
  - Использование соразтворителей (спирт, пропиленгликоль, полиэтиленгликоли и пр.)
  - Использование эмульгаторов (ПЭГ-40 гидрогенизированное касторовое масло, ПЭГ 660 гидроксистеарат и др.)
- Изотоничность (уровень осмотического давления раствора должен быть равен осмотическому давлению плазмы крови).
  - Гипотонический раствор может приводить к гемолизу (набухание и разрушение эритроцитов);
  - гипертонический раствор может приводить к плазмолизу (сморщивание эритроцитов).
- Использование антиоксидантов
- Требования к режиму стерилизации

# Технологическая схема



# Заключение по проделанной работе

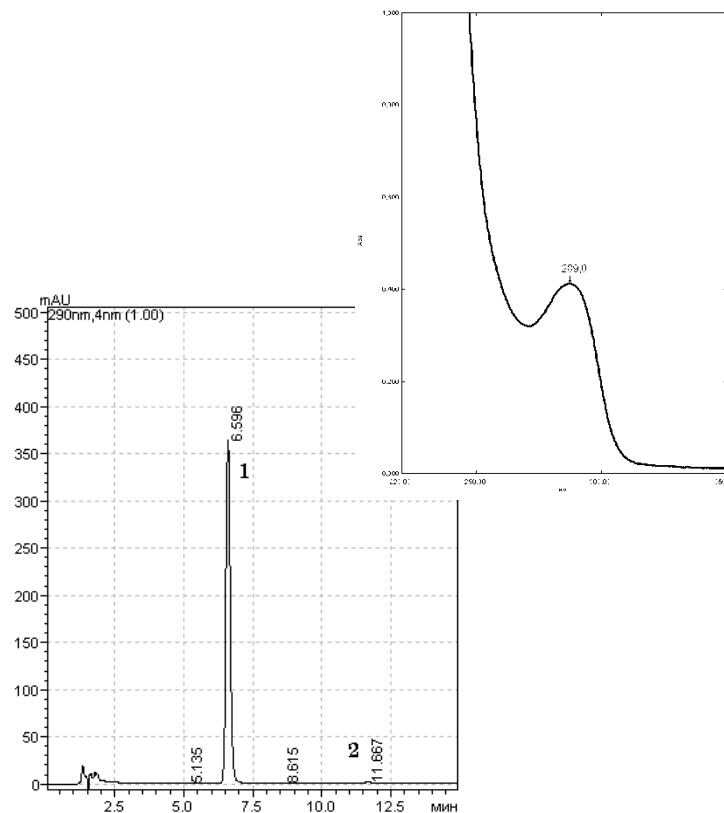
---

- ❑ Разработана лабораторная технология получения препарата Убихинол, раствор для внутривенного введения 10 мг/мл. Препарат получают растворением убихинола в смеси макрогол глицерилрицинолеата и полисорбата с добавлением смеси антиоксидантов в изотоническом растворе
- ❑ Для стерилизации раствора убихинола выбран метод фильтрования через мембранные фильтры. Для дополнительной защиты предложено проводить запайку в токе инертного газа.
- ❑ Нароботаны образцы препарата для тестирования физико-химических свойств, для изучения стабильности, определения сроков годности и условий хранения, и для проведения экспериментальных исследований безопасности и биологической активности



# Стандартизация глф

- Для подтверждения подлинности препарата предложены УФ-спектр и испытание методом ВЭЖХ.
- Для анализа препарата показателю «Посторонние примеси» предложен метод ВЭЖХ. Количественную оценку содержания примесей выполняют методом внутренней нормализации



1 - Убихинол;  
2 - Убихинон

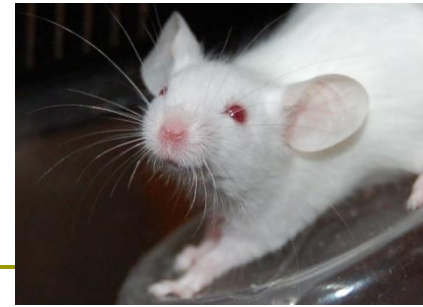
# Спецификация (проект ФСП)

ПОКАЗАТЕЛИ	МЕТОДЫ	НОРМЫ
Описание	Органолептически	Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость от практически бесцветного до светло-желтого цвета
Подлинность	УФ-спектр ВЭЖХ	Максимум при $289\pm 2$ Наличие пика с заданным относительным временем удерживания
Прозрачность	ГФ XII	Раствор должен быть прозрачным или опалесценция в растворе не должна превышать эталон мутности III
pH	ГФ XII, потенциометрический	От 1,5 до 4,0
Механические включения	РД 42-501-98, Визуальный метод Счетно-фотометрический метод	В соответствии с требованиями
Посторонние примеси Убидекаренона Другой единичной Суммы других единичных	ВЭЖХ	Не более 5 % Не более 0,5 % Не более 1 %

# Спецификация (продолжение)

Номинальный объем	ГФ XI	Не менее номинального
Пирогенность *	ГФ XII	Препарат должен быть апиrogenным
Бактериальные эндотоксины *	ГФ XII	Не более 70 ЕЭ/мл
Стерильность	ГФ XII, метод прямого посева	Должен быть стерильным
Количественное определение	УФ	от 9,0 до 11,0 мг/мл (90 – 110 % от заявленного количества)
Упаковка	В соответствии с НД	
Маркировка	В соответствии с НД	
Хранение	В защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С. Не замораживать!	

# Оценка безопасности: острая ТОКСИЧНОСТЬ



- Тест-системы: половозрелые самцы и самки аутбредных крыс и половозрелые самцы и самки аутбредных мышей
- Введение: однократное внутривенное и однократное внутримышечное
- Дозы:
  - Крысам препарат вводили внутривенно в дозах 100–300 мг/кг, внутримышечно в дозах 500–750 мг/кг,
  - мышам внутривенно и внутримышечно в дозах 50-250 мг/кг

## **Установлено:**

- Максимально переносимая доза лекарственного средства на основе коэнзима Q10 при составила:
  - внутривенном введении крысам 300 мг/кг, мышам – 250 мг/кг,
  - при внутримышечном введении крысам – 750 мг/кг,
  - при внутримышечном введении мышам – 250 мг/кг.
- Класс токсичности:
  - умеренно токсичные вещества по ГОСТ 12.1.007-76 (20 мг/кг < ЛД50 в/в < 700 мг/кг)
  - 5 классу опасности по OECD (300 мг/кг < ЛД50 в/в < 700 мг/кг).
  - летальные дозы не рассчитывали ввиду отсутствия гибели во всех тестируемых дозах.



# Оценка безопасности: хроническая

## ТОКСИЧНОСТЬ

---

- Тест-системы: половозрелые самцы и самки кроликов породы Калифорнийская
- Введение: многократное внутривенное в течение 28 дней с последующим 14-ти дневным наблюдением
- Дозы:
  - Терапевтическая (ТД) – 4,3 мг/кг, 2,5 ТД (10,75 мг/кг) и 5 ТД (21,5 мг/кг).

### **Установлено:**

- Гибель экспериментальных животных не зафиксирована
- Не выявлено влияние на массовые показатели органов, повреждения внутренних органов, на гематологические и биохимические показатели крови, отсутствие местно-раздражающего действия.
- Препарат Убихинол при его многократном (28 дней) внутривенном введении в диапазоне доза 4,3- 21,5 мг/кг не оказал токсического воздействия на экспериментальных животных.

# Оценка безопасности: аллергизирующие свойства



- Тесты: «реакция общей анафилаксии», «реакция активной кожной анафилаксии», «конъюнктивальная проба» на самцах и самках свинок, «реакция гиперчувствительности «замедленного» типа», «реакция воспаления на Конканавалин А» на самцах аутбредных мышей.
- Дозы: морским свинкам 6,5 и 65 мг/кг, мышам 17 и 170 мг/кг.

## Установлено:

- Средство на основе восстановленного Q10 (раствор для внутривенного введения 10 мг/мл) не обладает **сенсibiliзирующими свойствами.**

# АНОМАЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

---

- Цель: установление нежелательных примесей в лекарственном средстве Убихинол при однократном внутривенном введении
- задачи:
  - - определение тест-дозы испытуемого препарата для аутбредных мышей при внутривенном введении;
  - - апробация выбранной тест-дозы в испытании предоставленных образцов препарата Убихинол на предмет определения аномальной токсичности в соответствии с методикой, приведенной в ГФ XII
- Установлено: гибели экспериментальных животных не зафиксировано. Тест-доза составила 0,5 мл 1 % раствора лекарственного средства Убихинол на одно животное
- Лекарственное средство на основе коэнзима Q10 Убихинол **не обладает аномальной токсичностью**, следовательно, не содержит нежелательных примесей.

# Изучение гемосовместимости

---

- Цель: установление гемосовместимости кардиопротекторного лекарственного средства на основе коэнзима Q10 в двух тестах по изучению гемолитической и коагуляционной активности.

## **Установлено:**

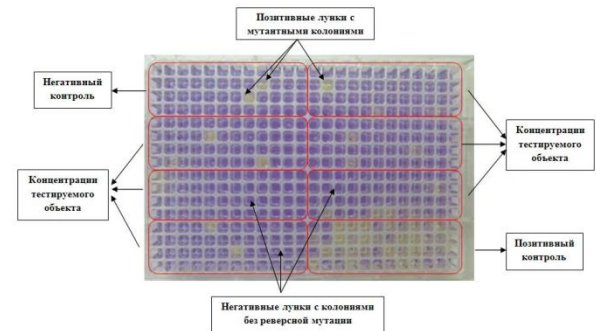
В условиях *in vitro* препарат не вызвал гемолиза при смешении с 2%-ной суспензией эритроцитов барана в соотношении 1:500, что соответствует однократному внутривенному введению препарата в дозе 100 мг (максимальная терапевтическая доза). Также доказано, что препарат в указанной дозе не оказал коагуляционного действия на плазму крови человека.

# Оценка безопасности: мутагенность

- Оценка мутагенной активности была проведена в тесте Эймса в микропланшетном формате (Xenometrix, Швейцария).
- Препарат на основе коэнзима Q10 протестирован в 6 концентрациях: 400 мкг/мл, 40 мкг/мл, 4 мкг/мл, 0,4 мкг/мл, 0,04 мкг/мл, 0,004 мкг/мл.

## Установлено:

- Средство на основе восстановленного коэнзима Q10 **не обладает мутагенной активностью** в тесте Эймса в варианте с метаболической активацией системы и без нее.
- В тесте Эймса с использованием *Salmonella typhimurium* показано отсутствие мутагенных свойств лекарственного средства на основе восстановленного коэнзима Q10 и его плацебо.



На рисунке лунки желтого цвета – мутантные колонии, лунки фиолетового цвета – колонии без реверсных мутаций. В качестве негативного контроля применяли плацебо тестируемого препарата. В качестве позитивного контроля были использованы стандартные мутагены в соответствии с рекомендациями OECD 471.

# Механизм действия: антиоксидантное действие

---

- На модели изолированной аорты крысы показано влияние препарата на NO'-зависимую релаксацию, вызванную ацетилхолином в той же степени, что и субстрат NO' – аргинин.
- На модели ПОЛ в липосомах показано снижение уровня свободнорадикальных интермедиатов, сравнимое с действием  $\alpha$ -токоферола.
- В условиях опытов с изолированными митохондриями водорастворимая форма убихинола-10 (убихинол) является эффективным антиоксидантом, успешно конкурирующим со спиновой ловушкой TIRON и сравнимым по своему действию с супероксиддисмутазой.
- **Важно** - что действующее вещество препарата (убихинол) надежно защищено от автоокисления, характерного для восстановленных форм хиноидных соединений в присутствии кислорода в щелочной среде.

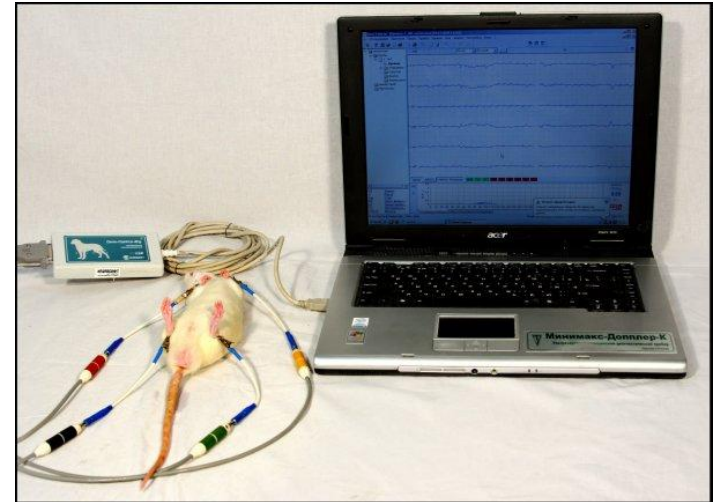
## Фармакологические свойства: противоишемическая и кардиопротективная активность

---

- Цель: определение специфической фармакологической активности препарата при систематическом введении
- Модель: экспериментального инфаркта миокарда по методу Selye
- Тест-системы: половозрелые самцы аутбредных крыс
- Индукция патологии: в первый день исследования после первичного введения исследуемых препаратов. В группе ложнопериорированных животных осуществлялся оперативный доступ без моделирования патологии.
- Дозы: 2, 10, 18, 26 и 34 мг/кг внутривенно однократно в течение 7 дней
- Препарат-сравнения: мельдоний в дозе 14,3 мг/кг
- Оценка специфической фармакологической противоишемической активности препаратов проводилась на основании гистологических, биохимических и электрофизиологических исследований

# Экспериментальный инфаркт миокарда

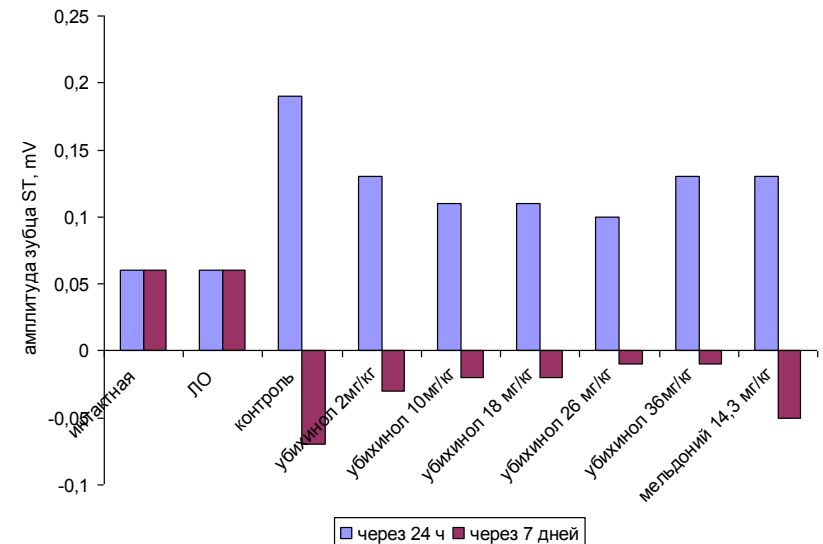
- **Регистрацию ЭКГ** проводили на наркотизированных животных с помощью компьютерного электрокардиографа для ветеринарии «Поли-спектр-8В» (ООО "Нейрософт") через 24 часа и на 7-й день после индукции патологии
- **Биохимические показатели** крови определяли на биохимическом анализаторе «А-25» (Испания) с использованием реагентов фирмы BioSystems (Испания) в плазме крови без следов гемолиза. Для исследования использовали венозную кровь
- Определяемые параметры
  - Креатинкиназа (КК)
  - Аспартатаминотрансфераза (АСТ)
  - Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)
  - Миоглобин
- **Патоморфологические исследования:** После эвтаназии крыс был произведен поперечный разрез сердца через желудочки ниже места перевязки левой коронарной артерии на кусочки толщиной 0,3–0,5 см





# Экспериментальный инфаркт миокарда: результаты электрофизиологических исследований

- Оценка электрокардиограммы проводилась по отведению с наиболее выраженными изменениями (элевация сегмента ST). Анализ данных (на 7-й день исследования) проводился по тем же отведениям, которые были выявлены в первый день.
- Амплитуда сегмента ST регистрировалась в милливольтгах.
  - 0,06 мВ соответствует нормальным значениям амплитуды ST
  - значения ниже 0,06 соответствуют ишемии
  - значения выше 0,06 - повреждению миокарда.



Таким образом, в отношении острой стадии экспериментального инфаркта миокарда тестируемый и стандартный объекты характеризуются равной эффективностью в отношении электрофизиологических параметров

На 7 сутки наблюдается переход острой стадии инфаркта миокарда (I стадии) в подострую (II стадия)

# Экспериментальный инфаркт миокарда:

## Заключение

---

- установлена антиишемическая и кардиопротективная эффективность лекарственного средства на основе коэнзима Q10 при систематическом введении в широком диапазоне доз самцам лабораторных крыс на модели острого экспериментального инфаркта миокарда.
- Применение лекарственного средства на основе коэнзима Q10 не оказывало влияния на смертность и динамику массы тела экспериментальных животных
- установлена выраженная эффективность лечебно-профилактического применения лекарственного средства на основе коэнзима Q10 для внутривенного введения в условиях моделирования острого инфаркта миокарда у крыс, превышающая эффективность препарата сравнения Мельдоний.

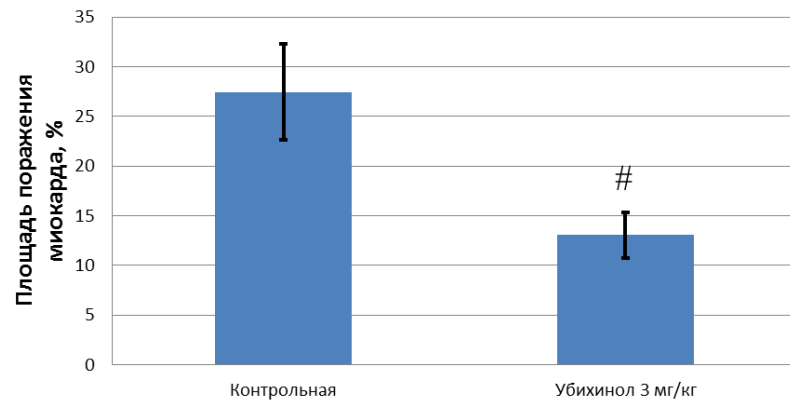
## Фармакологические свойства: противоишемическая и кардиопротективная активность на модели ишемии с последующей реперфузией миокарда у крыс

---

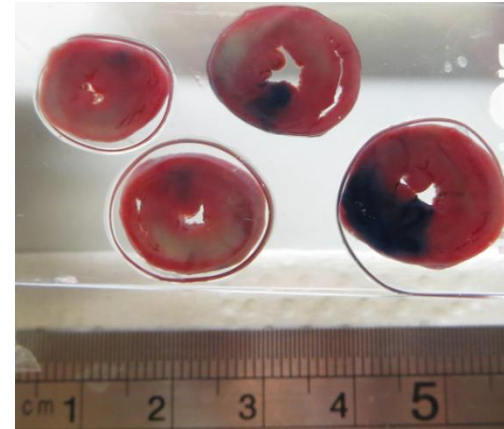
- Цель: определение специфической фармакологической активности препарата при систематическом введении
- Модель: реперфузионного повреждения миокарда у крыс
- Тест-системы: половозрелые самцы аутбредных крыс в возрасте 15-17 недель
- Дозы: 1, 3, 9 мг/кг внутривенно двукратно: за 10 минут до окончания ишемии (до начала реперфузии) и через 3 часа после
- Препарат-сравнения: мельдоний в дозе 14,3 мг/кг
- Оценка специфической фармакологической активности препаратов проводилась на основании гистологических, биохимических и электрофизиологических исследований

# Фармакологические свойства: результаты

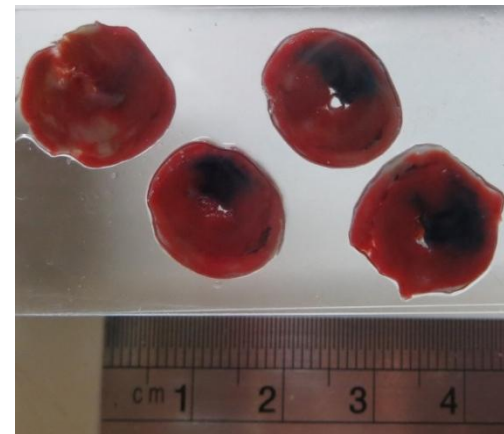
## □ Оценка площади повреждения миокарда



Примечание: #- данные имеют статистически достоверные отличия от контрольной группы (кр.Ньюмана-Келса,  $p < 0.05$ ).



Контроль



Убихинол 3 мг/кг

# Фармакокинетические свойства при однократном внутривенном введении

---

- Тест-система: взрослые крысы-самцы линии Wistar
- Введение: однократное внутривенное введение на трех уровнях доз – 5, 10 и 20 мг/кг.
- Для каждой дозы было использовано по 6 животных,
- Отбор крови проводили через 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 32, 48 ч.
- Количественный анализ коэнзима Q10 в плазме проводили с использованием валидированного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимическим детектированием.

# Фармакокинетические свойства при однократном внутривенном введении

Анализ кинетических кривых «ln концентрации-время» выявил их биэкспоненциальный характер для всех трех доз препарата. Первая короткая фаза, по-видимому, соответствует распределению препарата в сильно васкуляризированные органы. Площадь под фармакокинетической кривой ( $AUC_{0 \rightarrow 48ч}$ ) статистически значимо увеличивается с увеличением дозы убихинола. Время полувыведения препарата для трех доз составляло 8-9 часов, общий клиренс, отражающий объем ткани, освобождающийся от фармакологического средства в единицу времени с увеличением дозы снижается.

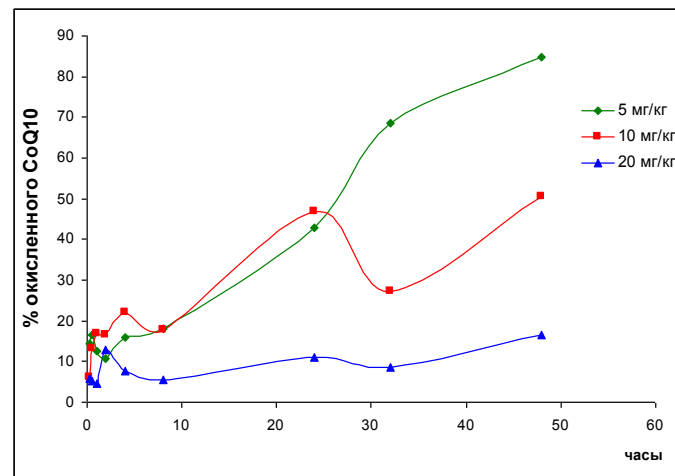
## Фармакокинетические параметры

Параметр/ Доза, мг/кг	$AUC_{0 \rightarrow 48ч}$ (мг*ч/мл)	$Cl_T$ (мл/ч)	$T_{1/2}$ (ч)
5	$0.642 \pm 0.061$	$2.91 \pm 0.32$	$8.60 \pm 1.45$
10	$2.498 \pm 0.115$ # $p < 0.01$	$1.54 \pm 0.09$ # $p < 0.01$	$7.81 \pm 0.15$
20	$5.835 \pm 0.287$ * $p < 0.01$ ; # $p < 0.01$	$1.29 \pm 0.05$ # $p < 0.01$ ; * $p < 0.05$	$9.05 \pm 0.80$ * $p < 0.05$

# Фармакокинетические свойства при однократном внутривенном введении

Препарат на основе восстановленной формы коэнзима Q10 после внутривенного введения частично окислялся. Доля окисленной формы увеличивалась со временем: через 0.25 и 48 часов после введения она составляла 14.5% и 84.9% при дозе 5 мг/кг, 6.2% и 50.4% при дозе 10 мг/кг, 5.9% и 16.7% при дозе 20 мг/кг. Это может являться проявлением включения препарата в эндогенные окислительно-восстановительные процессы. При этом препарат продемонстрировал достаточную устойчивость к окислению, так как за первые сутки после введения окислению подверглось не более 50% для доз 5 и 10 мг/кг и лишь около 10% – для дозы 20 мг/кг. Таким образом, наибольшую устойчивость к окислению показала доза 20 мг/кг.

Включение коэнзима Q10, введенного в окисленной форме внутривенно крысе, в окислительно-восстановительные процессы было показано ранее: при дозе 30 мг/кг через 48 часов в плазме крови оставалось около 10% окисленной формы и более 90% присутствовало в виде убихинола. Это подтверждает прослеженную в данном исследовании тенденцию: с увеличением вводимой дозы препарата доля Co Q10, подвергшегося окислению, снижается.



Окисление препарата в плазме крови на протяжении 48 часов после внутривенного введения в трех дозах. Представлены среднегрупповые значения доли окисленной формы в общем содержании коэнзима Q10 в плазме крови на каждую временную точку. Различия на 48 часов между тремя дозами достоверны ( $p < 0.05$ ).

# БЛАГОДАРИМ ЗА ВНИМАНИЕ

---

188663, Россия, Ленинградская обл.,  
Всеволожский р-н, п. Кузьмоловский, 245  
Тел./факс +7(812) 603 2433  
e-mail: [spbpharm@mail.ru](mailto:spbpharm@mail.ru)

